

苏州医工所宋一之团队在细菌感染快速诊断研究中取得进展

作者：宋一之、林恺铨

时间：2022-05-31

近期，中科院苏州生物医学工程技术研究所宋一之团队联合浙江中医药大学等，共同开展了基于重水标记的单细胞拉曼光谱技术的伊丽莎白菌属细菌快速药敏检测，相关文章发表于 *Frontiers in Microbiology* (IF=5.64, JCR 1区, 中科院 2区 TOP)。

伊丽莎白菌属细菌 (*Elizabethkingia spp.*) 是一类非发酵革兰阴性杆菌，为医院内感染的重要病原菌之一。该菌可引起脑膜炎、菌血症、肺部感染等疾病，易感对象为患基础疾病、长期使用抗生素及免疫功能低下或缺陷等人群，其呈多重耐药，是一种目前较为罕见但极具临床挑战的感染。因此，快速、准确的分析伊丽莎白菌的耐药特征，可以为感染的有效控制和临床合理用药提供依据。

宋一之团队此前曾提出通过重水标记-拉曼光谱联用技术 (Single cell Raman-DIP) 检测细菌的耐药特性 (Song et al, *Scientific Reports*, 7(1), 16648), 在此基础上优化技术方案并建立了一种适用于临床标本药敏检测的完整流程即FRAST (Song et al, *Analytical Chemistry*, 93(12), 5098-5106)。该技术的原理是：耐药菌在抗生素作用下会持续代谢重水中的氘元素，通过显微拉曼光谱可以检测细菌代谢后在胞内合成的含有碳-氘化学键的生物大分子，从而使不依赖于培养的单细胞水平的快速药敏检测成为现实。近年来国内外多个团队都开展了重水标记-拉曼联用技术在病原菌药敏检测中的应用研究，但该方法在血液感染标本中的适用范围，以及对较为罕见的以伊丽莎白菌属为代表的威克斯氏菌科病原菌的适用性尚无报道。

图1展示了FRAST技术判断伊丽莎白菌属细菌耐药的方法。具有代谢活性的伊丽莎白菌代谢氘元素后，其拉曼光谱中的C-H特征信号 (2800-3100 cm^{-1}) 有一部分偏移产生C-D信号 (2040-2300 cm^{-1})，在拉曼光谱中表现为在2170 cm^{-1} 波数附近的明显拉曼峰，通过分析拉曼光谱中C-D峰和C-H峰的比值，即可判断细菌在不同抗生素条件下的代谢活性，反映细菌药敏情况，因此这一比值也被作者称为代谢指数 (metabolic index)。图1展示了菌株FMS-007和TZ-3在亚胺培南抗生素作用下的拉曼光谱变化，通过代谢指数可以快速的判断FMS-007对亚胺培南抗生素的最小抑菌浓度 (MIC) 大于16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，TZ-3对亚胺培南抗生素的最小抑菌浓度 (MIC) 为16 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ，二者均对亚胺培南耐药。

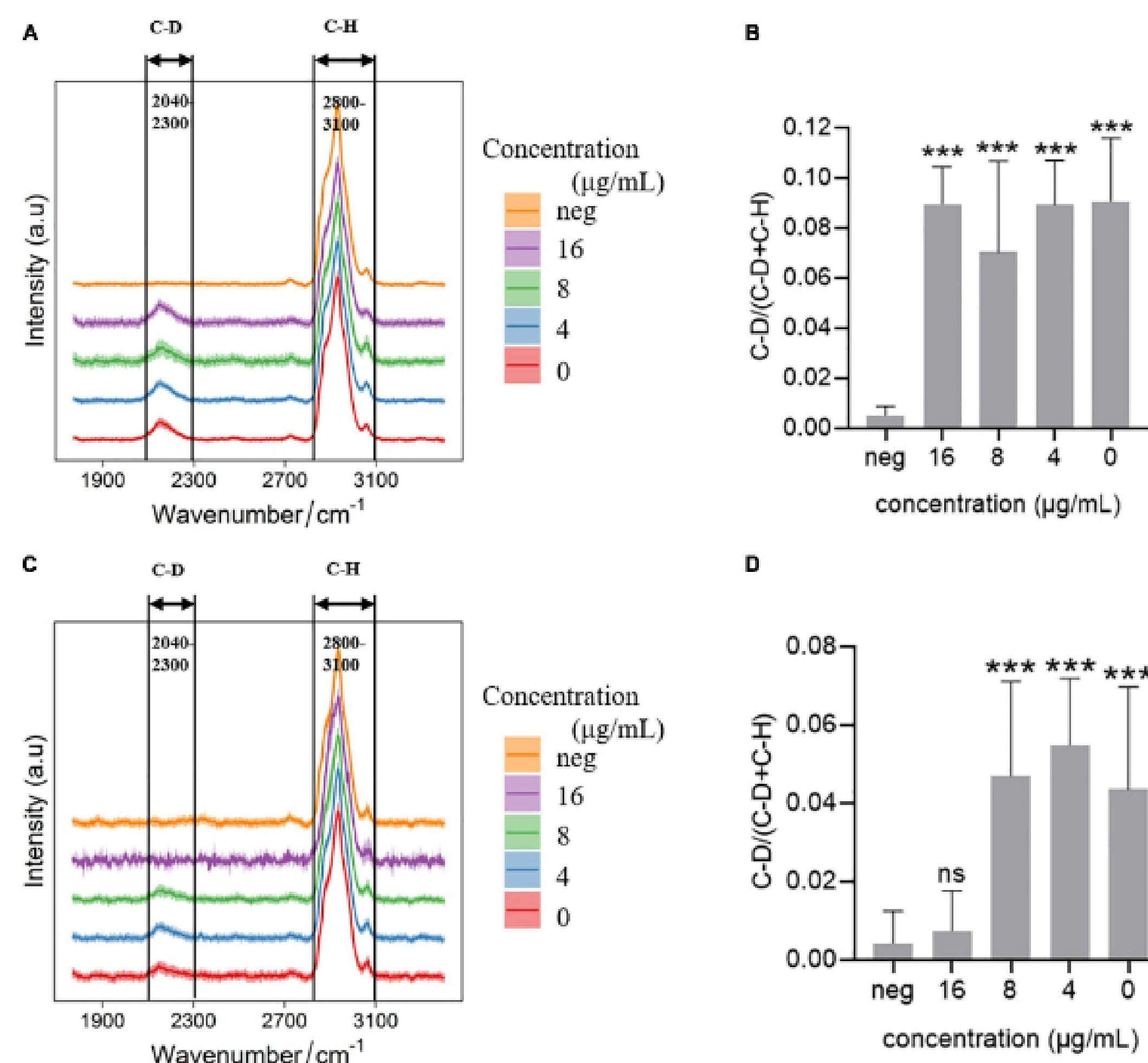


图1 亚胺培南作用1h后细胞的拉曼光谱及对应的代谢指数，其中，(A) (C) 分别为FMS-007和TZ-3的拉曼光谱，(B) (D) 为对应的代谢指数。

***: $P < 0.001$; ns: 没有明显差异。

在此前已经报道的重水标记-拉曼的药敏检测技术的相关研究中，通常对每种抗生素需要检测较为完整的浓度梯度序列 (通常包含6-8个以上的浓度梯度)，因此每种抗生素的拉曼光谱采集和分析时间都较长。在本研究中，科研人员提出仅需检测菌种的敏感、中介和耐药的三个折点浓度下的代谢指数是否降至阴性对照的70%以下，即可对其耐药特征做出准确判断。这一优化方法在项目组收集的31株伊丽莎白菌属细菌中得到验证。

血液感染患者若不能得到正确的救治，往往发展为脓毒症 (sepsis) 并严重危及生命，因此血液感染对病原菌诊断的时效要求更高。在本研究中，建立了血液样本的FRAST药敏检测流程，当血液中病原菌经增殖培养达到 10^6 CFU/mL后，通过血清分离胶管分离血细胞和细菌后，即可按照重水标记-拉曼光谱方法对分离的细菌进行快速单细胞药敏检测。该流程示意图如图2所示。

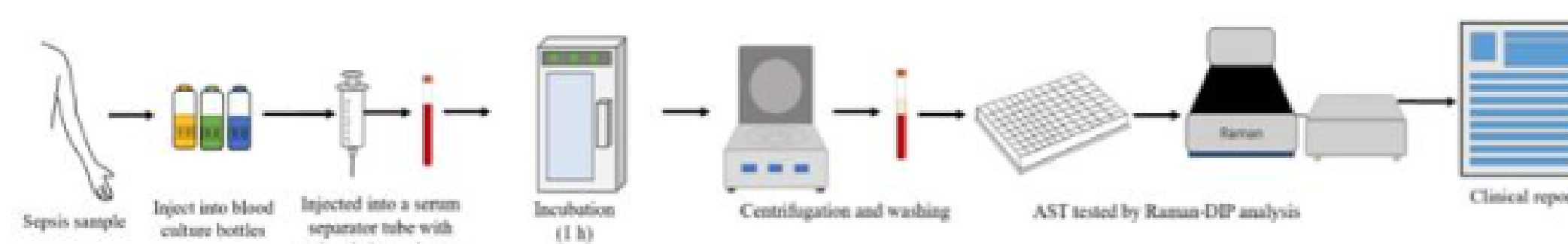


图2 重水标记-拉曼光谱方法对血液感染进行快速单细胞药敏检测的流程

结果显示，FRAST方法可在4小时内获得血液感染的药敏结果，且与常规方法基本一致：伊丽莎白菌属细菌对米诺环素和左氧氟沙星敏感性较好，可作为伊丽莎白菌属细菌感染治疗的首选药物。

Single cell Raman-DIP和FRAST技术提供了一种通过分析细菌单细胞水平的代谢程度判断耐药性的方法，跳过了传统流程中对培养的过度依赖，大大缩短药敏报告时间，在临床感染中诊断中具有潜在的广泛应用价值。

论文链接: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2022.878925/full>